FACULTE DE MEDECINE

SAINT-ANTOINE

UNIVERSITE PARIS VI

ANNEE 1973

THESE

N° 25

POUR LE

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

PAR

Georges CORMONT

né le 27 février 1944 à PARIS XIVe

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE. . . . . .

ETAT ACTUEL DES TENTATIVES DE VACCINATION CONTRE LA SYPHILIS

Président : M. G. L. DAGUET, Professeur

EDITIONS MEDICALES EM ET UNIVERSITAIRES

40, rue Pascal - PARIS XIIIe

FACULTE DE MEDECINE
SAINT-ANTOINE
UNIVERSITE PARIS VI

ANNEE
1973

THESE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

PAR

Georges CORMONT

né le 27 février 1944 à PARIS XIVe

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE. . . . . .

ETAT ACTUEL DES TENTATIVES DE VACCINATION CONTRE LA SYPHILIS

Président : M. G. L. DAGUET, Professeur

EDITIONS MEDICALES EM ET UNIVERSITAIRES

40, rue Pascal - PARIS XIIIe

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

UNIVERSITE PARIS VI 1.10.1972

FACULTE DE MEDECINE SAINT - ANTOINE

Professeurs titulaires

MM.	ANDRE R.	Hématologie	MM.	HUGELIN A.	Physiologie
	BRISSAUD H.	Pédiatrie		LAPLANE R.	Pédiatrie
	BROCARD R.	Médecine		LE LORIER G.	Obstétrique
	CAROLI J.	Médecine		LOEPER J.	Médecine expérimentale - Immunologie
	CATINAT J.	Cardiologie		LOYGUE J.	Chirurgie
	CERBONNET G.	Chirurgie		MAROIS M.	Histologie
	CHALUT J.	Radiologie		MERGER R.	Obstétrique
	CHERIGIE Ed.	Radiologie		MILHAUD G.	Biophysique
	CHIGOT P.L.	Chirurgie Infantile		NICK J.	Neurologie
	CONTAMIN Fr.	Neurologie		ORCEL L.	Anatomie pathologique
	CONTE M.	Médecine		PERRAULT M.	Médecine
	DAGUET L.	Bactériologie		POLONOVSKI C.L.	Pédiatrie
	DEBRAY J.	Médecine		POLONOVSKI J.	Biochimie
	DRY J.	Médecine		RICHET G.	Néphrologie
	FLABEAU F.	Chirurgie		GOLVAN Y.J.	Parasitologie
	GERBEAUX J.	Thérapeutique			
	GIRARD F.	Physiologie			
	GOSSET J.	Chirurgie			

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543902_0008

Professeurs sans chaire

MM. BRICOUT F.	Bactério-Virologie	MM. LESTRADET H.	Pédiatrie
Mme. CHAPUT A.	Stomatologie	PICARD J.	Biochimie
M. DUHAMEL G.	Hématologie	ROUX Ch.	Embryologie
		PIERON R.	Pneumo-Phtisio

MAITRES DE CONFERENCES

MM. AKOUN G.	Médecine	MM. HUGUIER M.	Chirurgie
Mme. ARON D.	Ophtalmo.	KRULIK M.	Méd. Gle.
MM. AMSTUTZ P.	Réanimation	LASFARGUES G.	Pédiatrie
APOIL A.	Orth. Traum.	LAUGIER A.	Radiologie
ATTAL C.	Pédiatrie	LEVY V.G.	Médecine
ARDAILLOU R.	Physiologie	MALAPOSSE M.	Chirurgie
BAUX S.	Chirurgie	MENSCH B.	Biophysique
BOURY G.	Chirurgie	MERY J. Ph.	Néphrologie
CHEYMOL G.	Pharmacologie	Mme. MIGNON Fr.	Néphrologie
CHOUARD Cl.	O.R.L.	MM. NAJMAN A.	Hématologie
CLOAREC M.	Médecine	NICOLLE M.	Neurologie
Mme. COMBRISSON A.	Hématologie	OPOLON J.	Médecine
MM. DECROIX G.	Pneumo-Phtisio	PAQUELIN Fr.	O.R.L.
DELIGNE P.	Anesthésiologie	PISSARO B.	Méd. préventine
DOYON D.	Radiologie	RAMPINI Cl.	Biochimie
FONTAINE J.L.	Pédiatrie	RICHARDET J.M.	Pédiatrie
FOUET P.	Thérapeutique	ROLAND J.	Anat. pathol.
GAUTIER H.	Physiologie	SALAT J.	Obstétrique
GRUNER M.	Chirurgie infantile	SALMON Ch.	Hématologie
GUILMET Cl.	Anesthésiologie	SANTARELLI J.	Obstétrique
GUIRAUDON G.	Anatomie	WARGON H.	Méd. expérim.
HERMAN D.	Médecine	WEINMANN S.	Biochimie
HUGUET Cl.	Chirurgie	WITCHITZ S.	Cardiologie

Enseignants Associés

ELIAKIS Em. — Médecine légale

Enseignants Contractuels

M.C.A. — M. KIRSCH F. — Physiologie biochimique

Chargés d'Enseignement

MM.	BENOIST	Rhumatologie	MM. DUNET	Endocrinologie
	BRUEZIERE	Chirurgie infantile	LOFFREDO	Obstétrique
	CRISTOL	Cardiologie	SALOMON	Rhumatologie

Attachés d'Enseignement

MM.	CASASSUS	Cardiologie	MM. HIVET	Chirurgie
	COUVREUR	Thérapeutique	MIGNOT	Neurologie
	DES LAURIERS	Neurologie	SAUVAN	Cardiologie
	GALLOUEDEC	Pneumologie	VANNIER	Pneumologie

oOo

A Monsieur le Professeur G.L. DAGUET

Professeur de Bactériologie-Virologie à la Faculté de Médecine St-Antoine.

Biologiste des Hôpitaux.

Qui m'a fait l'honneur de présider cette thèse et m'a toujours conseillé efficacement dans l'élaboration de celle-ci.

Je le prie de croire à ma respectueuse gratitude.

A mes Parents

Qu'ils reçoivent ici mes remerciements les plus sincères pour m'avoir permis ces études.

A ma Femme

Qui par son aide constante m'a facilité
la fin de mes études.

P L A N

I - INTRODUCTION

A - Généralités

B - Constatations cliniques et expérimentales d'immunité dans la syphilis

1 - Données anciennes cliniques

2 - Constatations expérimentales

a - Installation de l'immunité
b - Facteurs conditionnant l'immunité
c - Surinfection
d - Réinfection
e - Réactions cutanées de type allergie retardée.

3 - Données expérimentales récentes

a - Confirmation des travaux anciens
b - Persistance de formes ou de structures tréponémiques après traitement
c - Expériences réalisées avec d'autres tréponèmes

4 - Conclusions

C - Données actuelles sur la structure antigénique des Tréponèmes

1 - Techniques d'étude

2 - Etude des différents antigènes identifiés chez Treponema pallidum

a - Le cardiolipide
b - L'antigène protéique de groupe
c - Les antigènes protéiques spécifiques de tréponèmes pathogènes
d - Les antigènes polyosidiques spécifiques d'espèce

3 - Relations entre les antigènes et les réactions sérologiques

a - Réaction d'agglutination
b - Réaction d'agglutination passive (T.P.H.A.)
c - Réaction de fixation du complément
d - Réaction d'immobilisation du Tréponème (T.P.I.)
e - Réaction d'immunofluorescence (F.T.A.)
f - F.T.A. après absorption (F.T.A. - ABS)
g - Allergie cutanée
h - Réaction immunitaire.

II - TENTATIVES DE VACCINATION

A - Recherches anciennes

1 - Expériences de EAGLE et FLEISHMANN
2 - Expériences de WARING et FLEMING
3 - Expériences avec des tréponèmes vieillis
4 - Expériences de KNOX
5 - Immunisations croisées
6 - Expériences de TANI
7 - Expériences avec des tréponèmes non pathogènes
8 - Conclusions

B - Recherches récentes

1 - Introduction
2 - Travaux de METZGER

a - Matériel

b - Méthode
c - Résultats
d - Conclusion

3 - Travaux de MILLER

a - Principe
b - Matériel
c - Méthode
d - Résultats
e - Conclusion

III - PROBLEMES POSES A PROPOS ET AUTOUR DES EXPERIENCES DE VACCINATION

A - Influence du matériel tissulaire, en provenance de l'hôte, source du vaccin présent dans la préparation tréponémique

1 - Introduction

2 - Test de contrôle de l'immunité non tréponémique

a - Test d'hémagglutination

b - Test de cytotoxicité

c - Test de précipitation

d - Test de transplantation.

3 - Méthode de détection de l'immunité non tréponémique

a - Vaccination par un extrait testiculaire pur

b - Recherches d'anticorps anti-testiculaires

c - Immunité de transplantation

d - Conclusion

B - Comparaison des processus d'immunisation de METZGER et de MILLER

C - Recherches de MILLER, liées à la préparation du vaccin

1 - Preuve de la stérilisation bactériologique des animaux vaccinés

2 - Sensibilité de la méthode de contrôle par réinoculation

3 - Facteurs influençant la qualité de l'immunisation

4 - Possibilité d'une vaccination croisée avec les autres tréponèmes

5 - Possibilité de réduire le nombre d'injections

6 - Conservation du vaccin

7 - Extension de la vaccination à l'homme

8 - Existence d'un sérodiagnostic positif après la vaccination.

D - Conclusion

IV - DISCUSSION SUR LE MECANISME DE L'IMMUNITE DANS LA SYPHILIS

A - Arguments en faveur d'une immunité à médiation humorale

1 - Travaux anciens

2 - Travaux de MILLER

3 - Travaux de SEPETJIAN et THIVOLET

a - Matériel et méthode

b - Résultats cliniques

c - Résultats sérologiques

d - Conclusion

B - Arguments en faveur d'une immunité à médiation cellulaire

C - Etat des recherches sur les sites antigéniquement actifs

V - CONCLUSIONS

oOo

I N T R O D U C T I O N

A - GENERALITES

Bien que l'efficacité des traitements antibiotiques soit complètement démontrée, il existe actuellement une recrudescence de la syphilis vénérienne et une persistance des autres tréponématoses : syphilis endémique, pian et pinta.

Cette persistance des tréponématoses est à l'origine de recherches accrues dans plusieurs directions.

Ces recherches sont conduites dans quelques centres spécialisés, leurs efforts étant coordonnés par l'Organisation Mondiale de la santé (66).

Les différents points de ces recherches (91) portent sur :

- l'épidémiologie des tréponématoses (16 - 66)
- la structure des tréponèmes (4 - 22 - 29 - 68 - 71 - 72)
- la classification des trémonèmes (81)
- la culture des tréponèmes pathogènes (40 - 51 - 63 - 69 - 80)
- la structure antigénique des tréponèmes
- la spécificité des réactions sérologiques
- la vaccination tréponémique
- le traitement des tréponématoses (12 - 13 - 45).

Tous ces sujets sont évidemment interdépendants, toute acquisition dans l'un des domaines cités permettant généralement de progresser dans les autres.

B - CONSTATATIONS CLINIQUES ET EXPERIMENTALES D'IMMUNITE DANS LA SYPHILIS

1 - Données cliniques anciennes

Dès la première épidémie de syphilis en Europe au XVIe siècle, qui frappa les esprits par sa gravité, on remarqua qu'une première atteinte de la maladie protégeait contre une seconde atteinte. Déjà RICORD avait observé que "la syphilis ne se doublait pas".

Il s'agissait d'une immunité de surinfection qui débutait entre les phases primaires et secondaires et durant aussi longtemps que l'infection tréponémique persistait.

La syphilis congénitale n'apparaît qu'après le cinquième mois de grossesse, lorsque le trémonème peut franchir le placenta (24).

Il n'existe pas chez l'homme de résistance naturelle aux tréponématoses, l'homme étant le seul hôte de Treponema pallidum.

Les manifestations cliniques précoces s'atténuent, puis disparaissent ; il leur succède des périodes asymptomatiques (syphilis latente) et rarement, des symptômes tardifs (syphilis cutanée et viscérale).

Il existe des cas de guérison spontanée (extinction de la maladie).

Dans le cas d'une syphilis traitée, une réinfection est possible lors d'un nouveau contact avec le tréponème.

2 - Constatations expérimentales

Les constatations cliniques furent peu à peu précisées, surtout à partir du moment où l'agent causal de la maladie, Treponema pallidum, fut observé par SCHAUDINN et HOFFMANN (1905).

a - Installation de l'immunité

L'immunité acquise, lors de la première atteinte, n'est que partielle et la résistance est fonction du temps écoulé depuis le début de l'infection, du moins durant les premiers mois de la maladie (2).

Il est donc possible de trouver une lésion de surinfection en un autre point que le chancre de primo infection, l'immunité débutant localement au niveau de celui-ci, pour n'étendre progressivement à tout l'organisme, au

tout début de la maladie. Plus tard il sera, sauf rares exceptions, impossible d'obtenir une lésion au point de réinoculation, quelque soit le siège de celui-ci. Certains auteurs ont cependant obtenu des lésions typiques des stades secondaires ou tertiaires lors de réinfection (44), mais il s'agit de résultats disparates non reproductibles régulièrement.

b - Facteurs conditionnant l'immunité

L'immunité induite par la primo infection se développe d'autant plus vite que : (88)

- La primo inoculation est réalisée par injection intradermique ou par contact au niveau d'une excoriation cutanée. (Les essais d'infection par contact, au niveau d'une peau ou d'une muqueuse saine, ne donne pas de résultats constants).

- La souche est plus virulente et adaptée à l'espèce animale sur laquelle l'expérimentation est réalisée, (lapin en particulier).

- Le nombre de tréponèmes est plus grand pour une même souche. (L'inoculum minimum infectant est cependant de un tréponème).

Pour une même souche, l'inoculation étant faite avec le même nombre de tréponèmes et dans les mêmes conditions, de nombreux facteurs modifient l'évolution de la maladie,

- état de santé du sujet
- sexe du sujet (rôle des hormones) (13 - 32 - 33)
- régime alimentaire (49 - 92)
- température ambiante (26 - 48 - 92)
- température tissulaire locale (1 - 26 - 60)
- l'anaérobiose (70) (rh. local).

c - Surinfection (88)

Ainsi que nous l'avons vu auparavant, une surinfection est possible au tout début de l'évolution de la maladie. Mais l'évolution de cette surinfection est très variable selon la souche de tréponème utilisée : homologue, par exemple, en utilisant les deux fois la souche NICHOLS, ou hétérologue, en utilisant une souche différente de la souche NICHOLS.

En utilisant la souche homologue, il n'y a pas de surinfection, dès lors que le chancre est apparu ; si l'incubation de la maladie n'est pas terminée, il apparaîtra un second chancre, dont le temps d'incubation sera raccourci de façon telle que les deux chancres apparaîtront ensemble.

En utilisant une souche hétérologue, l'immunité cutanée n'apparaîtra que plus lentement et une lésion de surinfection peut apparaître après le premier chancre d'inoculation, le délai étant de quelques jours à quelques semaines.

En pratique courante, il n'est pas possible de produire des lésions de surinfection chez un sujet non traité, aux stades initiaux.

d - Réinfection (88)

Par contre, un traitement précoce, présumé stérilisant, rend le malade réceptif à une réinfection.

Il existe cependant, une résistance transitoire à la souche homologue et cette immunité de réinfection est d'autant plus complète que l'infection a évolué plus longtemps ; elle peut même augmenter après la stérilisation.

L'immunité disparaît lentement, persistant en dernier au niveau de la région cutanée, siège de la primo inoculation.

L'immunité de réinfection est très faible vis-à-vis des souches hétérologues.

L'immunité acquise, qu'il y ait eu ou non traitement, est variable selon les individus, tous ne faisant pas un cycle évolutif complet avec les phases primaires, secondaires et tertiaires, et on a relevé des cas de guérison spontanée de la maladie (extinction).

e - Réaction cutanée de type allergie retardée

A côté de l'immunité acquise, il se développe une allergie de type retardé, apparaissant à la fin de la phase secondaire chez l'homme, révélée par des injections intradermiques de tréponèmes tués (9 - 46).

Il est à noter que le phénomène de raccourcissement de la durée d'incubation, lors de la surinfection avec une souche homologue, peut être comparé à un phénomène de KOCH.

Les lésions gommeuses du stade tertiaire qui sont extensives, tout en étant très pauvres en tréponèmes, sont également analogues aux lésions retrouvées dans les réactions d'allergie de type retardé.

La réaction d'HERXHEIMER témoigne d'une libération d'antigènes sensibilisants, lors de la lyse des germes par les antibiotiques.

L'allergie n'est pas liée à l'immunité, puisqu'elle peut apparaître après injections répétées de tréponèmes tués.

3 - Données expérimentales récentes (88)

a - Confirmation des travaux anciens

Les expériences initialement entreprises chez le singe ont été surtout développées chez le lapin avec Treponema pallidum, souche NICHOLS, provenant du liquide céphalo-rachidien d'un homme et adaptée au lapin (1912), l'entretien se faisant par passage intra-testiculaire.

Selon un travail très complet de MAGNUSON et ROSENAU (42), on peut mettre en évidence les points suivants quant au développement de l'immunité.

Après l'inoculation infectante, il y a apparition de l'immunité en six semaines ; l'immunité croit peu à peu et atteint son maximum en 24 semaines. Ces chiffres ont été établis en traitant des lapins à des temps variables après la primo inoculation et en les réinfectant à l'issue du traitement.

L'immunité s'établit, d'autant plus vite, que le nombre de germes pathogènes injectés est plus important (25 - 86). L'immunité croît avec le nombre de tréponèmes présents.

Par contre, le nombre de germes injectés lors de la réinoculation de contrôle ne joue aucun rôle, pas plus que le temps écoulé entre le traitement et la réinfection (43).

Une fois l'immunité établie, celle-ci persiste même après élimination des tréponèmes par le traitement (43).

b - Persistance de formes et de structures tréponémiques après traitement

Le traitement par antibiotiques est indiscutablement efficace, et s'il est précoce, peut conduire à une stérilisation. Pourtant, il a été retrouvé, par de très nombreux auteurs, des tréponèmes parfois viables après traitement.

Collart, le premier, (5 - 6) a retrouvé des tréponèmes, analogues à Treponema pallidum, dans les ganglions lymphatiques, ce qui a été à l'origine du contrôle de stérilisation après traitement, par transfert des ganglions (bien que les ganglions produisent les cellules immunologiquement compétentes).

FRIBOURG-BLANC (16) a retrouvé des tréponèmes analogues à Treponema pertenue dans les ganglions de singes ne présentant pas de signes cliniques de syphilis.

Des tréponèmes ont également été observés dans l'humeur aqueuse de l'oeil, dans le liquide céphalo-rachidien, (6) les testicules, la rate.

Les tréponèmes ainsi découverts sont parfois infectants pour un sujet neuf, mais souvent, la preuve de l'infectivité n'a pu être faite, le tréponème étant soit non virulent, soit non pathogène ; il peut aussi s'agir s'artéfacts de coloration.

Cette persistance des tréponèmes peut s'expliquer de nombreuses façons :

- résistance à la pénicilline, peu probable
- concentration insuffisante de la pénicilline dans des milieux où elle diffuse mal (liquide céphalo-rachidien, humeur aqueuse de l'oeil)
- localisation intra-cellulaire du tréponème (82)
- multiplication anormalement lente du tréponème
- blocage du tréponème par les défenses immunitaires (74).

C - EXPERIENCES REALISEES AVEC D'AUTRES TREPONEMES

Les résultats obtenus avec Treponema pallidum sont, en partie, reproductibles avec Treponema pertenue et Treponema cuniculi (38).

Chez la souris, les tréponèmes injectés survivent et sont encore infectants pour le lapin, une fois prélevés, bien que la souris ne fasse aucune maladie apparente.

Des études ont été conduites également chez le singe avec des résultats semblables.

Une immunité croisée entre Treponema pertenue et Treponema cuniculi d'une part, et Treponema pallidum d'autre part, a été constatée. Cette immunité est variable et n'est jamais complète. Elle est plus importante entre Treponema pertenue et Treponema cuniculi. Par contre, Treponema pallidum immunise assez bien contre la syphilis endémique, Treponema pertenue et Treponema cuniculi (38 - 88).

Cette immunité croisée, étudiée chez le lapin et le singe se retrouve chez l'homme de façon variable.

4 - Conclusions

L'immunité dans la syphilis est donc d'une forme assez particulière par son évolution et par le rôle du tréponème.

La tréponémie d'abord importante, disparaît ensuite, mais le tréponème persiste en divers points de l'organisme et il existe de nouvelles tréponémies lors des phases secondaires et tertiaires.

Mais l'immunité ne semble pas liée pour autant à la persistance du tréponème dans l'organisme. Un sujet traité tardivement et stérilisé, restera immunisé, même si les réactions sérologiques se négativent.

En résumé, il s'agit cliniquement d'une immunisation particulièrement lente à s'établir, liée à la présence du tréponème à son début.

Le tréponème semble donc un organisme peu immunisant, la lenteur de sa reproduction pouvant partiellement l'expliquer en dehors d'autres facteurs qui seront étudiés plus loin.

c - Données actuelles sur la structure antigénique des tréponèmes

1 - Techniques d'étude

L'étude antigénique des tréponèmes se heurte à l'impossibilité de les isoler à l'état pur ; ils sont extraits des testicules de lapin, en assez petite quantité, et sont contaminés par du tissu testiculaire.

L'extraction des tréponèmes doit se faire moins de dix jours après l'inoculation intra-testiculaire, sinon, il existe des modifications des structures tréponémiques dues à l'action des anticorps sériques produits par le lapin hôte.

Immédiatement après l'extraction et durant quelques heures, le tréponème est immunologiquement inerte, ce que certains auteurs expliquent par l'existence d'une couche protectrice dont il serait entouré. Cette couche serait, soit une sécrétion tréponémique de nature muco-polysaccharidique, soit une substance provenant de l'hôte. La réactivité apparaîtrait plus rapidement après action du lysozyme qui détruirait cette couche.

Par analyse en milieu gélifié, il a été identifié, jusqu'à présent, une douzaine d'antigènes différents chez les tréponèmes ; les deux-tiers d'entre eux sont portés par l'enveloppe, ce sont essentiellement des polyosides spécifiques de souche (62).

Dans le cytoplasme et sur la membrane cytoplasmique, on retrouve surtout des antigènes protéiques dont l'un d'eux serait spécifique du groupe treponema (10).

2 - Etude des différents antigènes identifiés chez Treponema pallidum

a - Le cardiolipide

D'abord nommé haptène de WASSERMANN, il est impliqué dans les réactions d'agglutination (floculation) et de fixation du complément lorsqu'il est mis en présence de sérum syphilitique contenant l'anticorps correspondant : la réagine.

Cet haptène est ubiquitaire, mais il ne semble posséder un pouvoir immunogène que s'il est porté par un tréponème pathogène et c'est, par ce biais, qu'il est spécifique des tréponématoses. (Il existe cependant des réactions "faussement positives" au cours de certaines maladies auto-immunes, telles que le Lupus Erythémateux disséminé).

Les deux propriétés - agglutinantes et fixatrices du complément - de la réagine, sont dissociables.

La réagine est une gamma globuline appartenant aux classes Ig M et Ig G. (65-85).

Deux hypothèses sont proposées pour interpréter la synthèse de la réagine. Il s'agirait :

- soit d'un auto-anticorps : l'injection de cardiolipide, couplé

au sérum de porc ou mélangé à de l'adjuvant de Freund, peut provoquer l'apparition de la réagine. (Les réactions positives au cours du Lupus, plaideraient en faveur de cette hypothèse) (15),

- soit d'un anticorps classique secondaire à la présence du cardiolipide rendu immunisant par sa liaison au sein des tréponèmes à un glycopeptide.

b - L'antigène protéique de groupe

Un sérum syphilitique privé de réagine par épuisement, fixe encore le complément, en présence d'une suspension de tréponèmes de Reiter.

L'antigène protéique est situé dans la membrane cytoplasmique ou dans le cytoplasme. Il est retrouvé dans tous les tréponèmes étudiés à ce jour, qu'ils soient pathogènes ou saprophytes.

L'activité immunologique des préparations est plus importante après le broyage (ultrasonnat), ce qui tend à prouver la situation interne de l'antigène.

L'anticorps correspondant est une globuline retrouvée dans les groupes Ig M. et Ig G. (10).

c - Antigènes protéiques spécifiques de tréponèmes pathogènes

On trouve les anticorps correspondant en épuisant les sérums par des souches homologues ou hétérologues dont les constituants protéiques ont été dénaturés. Les sérums sont ensuite mis en présence des souches non dénaturées.

d - Antigènes polyosidiques spécifiques d'espèce

L'anticorps correspondant est retrouvé par fixation du complément après épuisement de la réagine et de l'antiprotéine de groupe.

3 - Relations entre les antigènes et les réactions sérologiques

a - Réactions d'agglutination

Réalisables après macération des tréponèmes à 4° C. durant quelques heures, elles mettent en jeu plusieurs antigènes : l'haptène de WASSERMANN, un antigène thermolabile (protéine de groupe), un antigène thermostable inconnu (20).

b - Réaction d'agglutination passive (T.P.H.A.)

Utilisant des hématies sensibilisées, elle met en jeu les antigènes spécifiques de Treponema pallidum.

c - Réaction de fixation du complément

Semble liée à la protéine de groupe et à une seconde protéine non encore identifiée.

d - Réaction d'immobilisation du Tréponème (T.P.I.) ou réaction de NELSON.

Elle est peut-être due à un antigène inconnu, localisé au faisceau de fibrilles qui serait à l'origine de la production de l'immobilisine, bien qu'aucune preuve formelle n'ait pu encore en être apportée.

Cet anticorps immobilisant est peut-être en relation avec un facteur tréponémicide du sérum retrouvé à la phase secondaire de la maladie, les deux activités immobilisante et tréponémicide évoluent, en effet, d'une façon parallèle : ce serait une globuline IgM. ou IgG. (31).

e - La réaction d'immunofluorescence (F.T.A.)

Elle met en jeu la protéine de groupe et un ou plusieurs antigènes spécifiques des tréponèmes pathogènes ; l'antigène immobilisant semble exclu de cette réaction (10).

f - Réaction d'immunofluorescence après absorption (F.T.A. - ABS).

Dans le F.T.A. on ne peut employer le sérum à étudier à l'état pur ; on doit faire une dilution au 1/200e, le sérum humain normal semblant contenir des anticorps anti-tréponémiques en petites quantités, leur origine pouvant être liée à la présence des tréponèmes saprophytes humains. La détermination de ce taux de dilution des sérums étant arbitraire, il a été trouvé préférable d'essayer d'éliminer ces anticorps par absorption, sur une culture de tréponèmes de REITER. Les résultats obtenus sont satisfaisants, mais il subsiste quelques cas de "fausse positivité".

L'absorption se fait également sur le milieu de culture du tréponème de REITER, légèrement modifié.

L'anticorps serait retrouvé parmi les fractions globuliniques Ig A, Ig M, Ig G, (31-34).

g - Réaction d'allergie cutanée

Aucune relation n'a été établie, jusqu'à présent, avec un antigène précis ; il serait protéique, puisque les polyosides ne provoquent pas d'hypersensibilité retardée.

h - Réactions immunitaires

L'antigène responsable de l'immunité de surinfection ou de réinfection, est distinct des précédents qui ne confèrent aucune immunité. Ce sont de tels antigènes que METZGER et MILLER ont essayé de déterminer, pour effectuer leurs tentatives de vaccination.

oOo

II - TENTATIVES DE VACCINATION

A - RECHERCHES ANCIENNES

Des tentatives d'immunisation à l'aide de tréponèmes ont été faites à plusieurs reprises, soit avec des tréponèmes pathogènes tués, soit avec des espèces non virulentes.

1 - Expériences de EAGLE et FLEISHMANN (11)

Ces auteurs ont utilisé des tréponèmes pathogènes tués, soit par le Merthiolate, soit par la chaleur, soit par congélation poussée (Treponema pallidum, souche NICHOLS).

Les inoculations ont été faites par toutes les voies avec ou sans adjuvants.

Il n'y a apparition d'aucune immunité après un très long intervalle de temps entre l'inoculation des tréponèmes tués et la réinfection par des germes virulents (41).

2 - Expérience de WARING et FLEMING (89)

Ces chercheurs ont utilisé des Treponema pallidum, souche NICHOLS, lyophilisés, mais les résultats ont été également décevants.

3 - Tréponèmes vieillis

Aucun résultat favorable non plus par cette méthode.

4 - Expérience de KNOX (35)

Une immunisation partielle a été obtenue en utilisant des Treponema

pallidum inactivés par vieillissement ou par les ultrasons, ou à partir d'une souche avirulente.

5 - Immunisations croisées (88)

Avec Treponema cuniculi, une protection partielle et variable est obtenue.

6 - Expérience de TANI (83)

En inactivant des Tréponema pallidum par l'antiformine, Tani a réussi à obtenir une immunisation partielle.

7 - Tréponèmes non pathogènes

Toutes les tentatives faites jusqu'à ce jour se sont soldées par un échec.

8 - Conclusions

Lors de toutes ces tentatives en vue d'une immunisation, un résultat positif n'a été que rarement obtenu et l'immunisation a toujours été incomplète ; cependant des anticorps de type réagine ont pu être mis en évidence à plusieurs reprises.

Ces expériences ont donc confirmé, d'une façon formelle, les constatations cliniques et expérimentales anciennes, tout en éliminant définitivement de nombreuses voies potentiellement valables pour obtenir une vaccination, permettant ainsi de restreindre, de façon appréciable, le domaine de la recherche.

B - RECHERCHES RECENTES

1 - Introduction

Depuis une dizaine d'années, plusieurs microbiologistes ont tenté de mettre au point une vaccination contre la syphilis et les autres tréponématoses, seul moyen d'obtenir l'éradication de ces fléaux mondiaux.

Comme nous l'avons vu plus haut, quelques résultats disparates, souvent non reproductibles, ont pu être acquis par plusieurs chercheurs, ce qui laissait espérer la mise au point d'une méthode de vaccination applicable à l'homme

Au cours de ces années, deux groupes de chercheurs, dirigés d'une part, par METZGER et d'autre part, par MILLER, se sont appliqués à trouver de nouvelles méthodes de vaccination.

Ils ont obtenu des résultats très encourageants, mais la méthodologie très complexe employée, ne permet pas encore de passer à une application à l'homme.

Nous allons étudier, plus en détail, les travaux de ces deux groupes de chercheurs.

2 - Travaux de METZGER (52)

a - Matériel

Il utilise, comme la plupart des expérimentateurs, une souche de Treponema pallidum virulent, la souche NICHOLS.

Les tréponèmes sont extraits d'un syphilome aigu récent (moins de 10 jours) de lapin et inactivés, de façon à préserver leurs composants protéiques thermolabiles, que l'auteur suppose être en partie du moins, les antigènes protecteurs, d'après des travaux antérieurs (53).

L'inactivation a été réalisée selon deux modalités, dérivées l'une de l'autre.

- vaccin 1 : les tréponèmes sont lavés, puis conservés dans une solution tampon phosphate à pH 7,4 ; on les y laisse vieillir pour les inactiver durant 7 à 10 jours à 4° C.

- Vaccin 2 : Par la même méthode, mais en ajoutant à la solution tampon de la Pénicilline G à la concentration de 1 µ g./ml. Dans ce cas, le vieillissement ne dure que 6 jours, après une incubation préalable de 20 heures à 37°C.

Les tréponèmes ainsi obtenus ne sont pas viables, mais n'ont subi aucune détérioration protéique.

b - Méthode

La vaccination se fait, soit par voie intra veineuse, soit par voie intra musculaire, chez des lapins des deux sexes dont la séronégativité a été vérifiée, au préalable,

avec le vaccin 1 :

- par voie intra veineuse : 4 injections par semaine, durant 7 semaines, avec un total de 8 x 10^9 tréponèmes,
- par voie intra musculaire : 4 injections par semaine, durant 7 semaines, avec un total de 12 x 10^9 tréponèmes. Les injections sont faites en 4 points différents,

avec le vaccin 2 :

- par voie intra veineuse : même procédé que pour le vaccin 1,
- par voie intra musculaire : même procédé que pour le vaccin 1,
- en une seule injection intra veineuse ou intra musculaire contenant 24 x 10^9 tréponèmes.

c - Résultats

Le degré d'immunité qui apparaît à la suite de ces injections est partiel et variable selon le sexe de l'animal.

Voici, par exemple, les résultats obtenus par la vaccination par voie intramusculaire avec le vaccin 2.

La réinfection de contrôle fut effectuée 5 semaines après la fin du processus d'immunisation, par injection intra-dermique de 1.000 tréponèmes virulents, en chacun des 4 points précédemment choisis.

Les réactions cutanées des lapins sont contrôlées journellement et la date, ainsi que la nature des lésions qui apparaissent sont notées.

Après 4 mois, on fait un transfert de ganglions lymphatiques. Les résultats de cette expérience sont résumés dans le tableau suivant.

Il en ressort que pratiquement toutes les femelles ont acquis une protection totale, mais, que par contre, seulement un sur trois des mâles est réfractaire à la réinoculation.

L'immunisation obtenue par voie intraveineuse est un peu supérieure.

L'immunité obtenue par une seule injection est plus faible.

xe du lapin	Nbre. de lapins avec lésion (s) après réinfect. / Nbre. de lapins inoculés	Nbre. de points de réinfection + / Nbre. de points	Durée moyenne de l'incubation	Nbre. de lapins sans lésion à transfert + / Nbre. de lapins contrôlés
vaccinés	5/9	9/36	31	1/4
âles témoins	4/4	16/16	16	
vaccinés	1/9	1/36	32	0/8
Femelles témoins	7/7	26/28	19	

Le contrôle du sérodiagnostic s'est révélé positif pour le V.D.R.L. et négatif pour le T.P.I. (sauf en cas d'immunisation par voie intraveineuse).

d - Conclusion

Ce type d'immunisation apparaît donc imparfait. Il nécessite, d'une part, une longue conservation des tréponèmes avant leur emploi, et, d'autre part, de nombreuses injections.

Quant aux résultats, ils sont très inconstants : il existe une différence d'immunisation selon le sexe, ce qui peut être lié à la présence inévitable actuellement de tissus testiculaires dans le vaccin provenant du lapin donneur, ce qui souligne la possibilité d'une réaction de type antigène-anticorps vis-à-vis de ces tissus chez le receveur, avec le risque que la réaction aille jusqu'à léser son propre tissu testiculaire.

3 - TRAVAUX DE MILLER (59)

a - Principe

L'auteur part de l'hypothèse selon laquelle les antigènes immunisants de Treponema pallidum sont extrêmement labiles, ce qui explique les échecs des autres tentatives de vaccination, les antigènes protecteurs ayant été détruits par l'inactivation des germes ou lors de l'extraction des tréponèmes.

Il semble aussi exister une relation entre la virulence et le pouvoir immunogène d'une part, la virulence et la conservation de la mobilité d'autre part.

D'où la possibilité que l'antigène immunisant soit détruit par les procédés utilisés lors du test d'immobilisation des tréponèmes.

Il était donc nécessaire de trouver une méthode permettant d'obtenir des tréponèmes non infectieux, non proliférants, mais mobiles, et ayant donc gardé leurs antigènes protecteurs.

b - Matériel

En 1965, MILLER montrait que des Treponema pallidum, souche NICHOLS, irradiés le jour même de leur récolte par des rayons δ provenant d'une source de Co^{60} perdaient leur pouvoir infectieux, mais gardaient leur mobilité pour une dose d'exposition de 520.000 roentgens. (Cette dose sera ensuite portée, pour plus de sécurité, à 650.000 roentgens).

MILLER a donc réalisé ainsi une préparation vaccinale originale correspondant à son hypothèse de départ.

Ce vaccin est, par définition, composé de tréponèmes rendus peu ou non virulents et incapables de se multiplier activement.

Or, nous l'avons vu, l'apparition de l'immunité semble liée à la présence de tréponèmes intacts, à la quantité de tréponèmes inoculés et au temps écoulé depuis l'injection, c'est-à-dire, qu'elle serait liée à la multiplication in situ des tréponèmes injectés, le processus de vaccination doit donc employer un schéma copiant cette multiplication, bien que le vaccin ne comprenne que des tréponèmes ne pouvant se multiplier activement.

c - Méthode

Lorsque les tréponèmes sont virulents, il faut au moins trois mois pour que l'immunité totale apparaisse.

Si l'on veut obtenir cette immunité avec des tréponèmes qui ne peuvent se multiplier, il faudra probablement un délai deux ou trois fois plus long, soit 24 ou 37 semaines.

Le procédé d'immunisation retenu par MILLER a donc tenu compte de ce raisonnement et plusieurs expériences ont été réalisées simultanément.

Toutes les injections immunisantes furent faites par voie intra-veineuse.

- une série de lapins fut immunisée pendant 12 semaines, à raison de 1 ou 2 injections par semaine, avec un total de $9,7 \times 10^8$ tréponèmes.

Après le test de surinfection de contrôle réalisé par une injection intradermique de 500 tréponèmes virulents, ces lapins firent une infection typique (chancre).

- Une seconde série de lapins fut immunisée pendant 24 semaines, à raison de 1 ou 2 injections par semaine, avec un total de $1,6 \times 10^9$ tréponèmes.

Après le test de surinfection, 11 des 17 lapins montrèrent une immunité partielle à la réinfection de contrôle (incubation plus longue et lésions atypiques).

- Une troisième série de lapins fut immunisée pendant 37 semaines avec un total de $3,71 \times 10^9$ tréponèmes en 60 injections, à raison de 1 ou 2 injections par semaine.

d - Résultats

Tous les animaux ainsi immunisés présentèrent une résistance complète lors du test de surinfection de contrôle qui fut fait 10 jours après la dernière injection immunisante, avec une quantité de tréponèmes variable : 1.000 ou 100.000 en chacun des points choisis pour ce test (4 points différents par lapin).

Aucune lésion n'apparaît après 3 mois d'observation, en outre, aucun lapin neuf inoculé par voie intra-testiculaire avec des extraits ganglionnaires provenant des lapins vaccinés, ne montra de signe d'infection clinique durant les 6 mois d'observation auxquels on les soumis. Les tests sérologiques de ces lapins contrôles étaient tous négatifs - V.D.R.L. - T.P.I. - F.T.A.-ABS - ainsi que la recherche du tréponème au microscope à fond noir ou après coloration.

L'immunité provoquée par le vaccin persiste au moins un an.

En effet, la réponse immunitaire contrôlée par les tests sérologiques : V.D.R.L. - T.P.I. - F.T.A.-ABS - est encore importante à cette date.

Sur les 11 lapins vaccinés contrôlés :

5 lapins avaient un V.D.R.L. positif, soit 46 %
2 lapins avaient un T.P.I. positif, soit 18 %
10 lapins avaient un F.T.A.-ABS positif, soit 90 %.

e - Conclusion

Cette vaccination est donc satisfaisante sur le plan immunitaire. Les résultats de ces études représentent les premières données expérimentales démontrant la possibilité de conférer une immunité solide et durable contre Treponema pallidum.

Mais le protocole d'immunisation est encore beaucoup trop long et il faut utiliser les tréponèmes le jour même de leur préparation. Il ne s'agit donc pas encore d'un vaccin permettant une application pratique chez l'homme.

oOo

III - PROBLEMES POSES

A PROPOS ET AUTOUR DES EXPERIENCES DE VACCINATION

A - INFLUENCE DU MATERIEL TISSULAIRE PRESENT DANS LA SUSPENSION TREPONEMIQUE SUR L'APPARITION DE L'IMMUNITE

1 - Introduction

Dans son travail, METZGER (52-54) avait pour but, non seulement de créer une immunisation à l'aide de tréponèmes non virulents, mais aussi de déterminer le rôle joué dans les préparations vaccinales par le matériel non tréponémique provenant du testicule des lapins donneurs, puisqu'il n'a pas été possible, jusqu'à présent, d'obtenir une suspension tréponémique à l'état pur, sans léser les tréponèmes de façon irréversible.

Que ce soit par centrifugation ou en gradient de densité, on n'a pu encore séparer complètement les tréponèmes des antigènes testiculaires, qu'ils soient particulaires ou en solution.

Il était donc possible que, dans le vaccin préparé par METZGER, les antigènes testiculaires supportent une part ou la totalité de l'immunité produite.

2 - Tests contrôlant l'immunité non tréponémique

Pour ce contrôle, METZGER et son équipe utilisent les tests suivants :

a - Test d'hémagglutination

Réalisé avec des érythrocytes des différents groupes sanguins du lapin ; érythrocytes trypsinisés et mis en suspension à 2 % dans de l'eau physiologique.

Une goutte de la suspension étant mise en présence du sérum à tester, la lecture se fait à l'oeil nu après une incubation de 30 minutes à 37°C, en chambre humide (18).

b - Test de cytotoxicité

Réalisé avec des lymphocytes de la circulation périphérique, selon la méthode de MATEJ (47).

c - Test de précipitation

Réalisé avec des sérums dont on connaît les allotypes, afin de détecter les précipitations par la méthode de la double diffusion d'OUTCHERLONY (67).

d - Transplantation et tolérance de greffes

On réalise des allogreffes de peau à la base des oreilles. Le rejet de la greffe est objectivé par une hémorragie ou la nécrose de la greffe.

Ces transplantations sont difficiles, car on ne dispose pas de lignées pures du lapin, ce qui influence d'ailleurs l'ensemble du problème.

3 - Méthodes de détection de l'immunité non tréponémique

a - Vaccination par un extrait testiculaire pur

METZGER a effectué, en plus des immunisations par le vaccin tréponémique, des immunisations par une suspension d'extraits testiculaires de lapins sains. L'extrait est préparé chaque semaine et gardé à 4°C jusqu'à utilisation.

Cette préparation est injectée à un groupe de lapins mâles et à un groupe de lapins femelles, selon un processus identique à celui utilisé pour le vaccin tréponémique.

L'infection tréponémique est pratiquée 5 semaines après la fin du protocole d'immunisation et on infecte, en même temps, un lot de lapins de contrôle.

Aucune immunisation contre le tréponème n'apparaît dans ces conditions.

b - Recherche d'anticorps antitesticulaires (54)

Chez des lapins ayant reçu le vaccin antitréponémique, et par conséquent, des fractions testiculaires, on recherche la présence d'anticorps antitesticulaires.

On immunise un lot de lapins mâles et un lot de lapins femelles en leur injectant, par voie intramusculaire, 4 fois par semaine et durant 7 semaines, un total de 12 x 10^9 tréponèmes.

Sept semaines après la dernière injection immunisante, on recueille du sang pour faire un séro-diagnostic ; 4 semaines plus tard, on réalise le test de contrôle de surinfection pour mesurer la valeur de l'immunisation obtenue.

Résultats :

La moitié des lapins développent des hémagglutinines ;

Un tiers des lapins développent des anticorps cyto-toxiques.

Aucun lapin ne développe de précipitines.

Aucune relation n'est retrouvée entre la présence d'anticorps anti-testiculaire et le taux d'immunité acquise.

c - Immunité de transplantation

Elle est étudiée en immunisant des mâles et des femelles par une seule injection intramusculaire de 12 x 10^9 tréponèmes.

La transplantation de l'allogreffe provenant de lapins vaccinés antérieurement est effectuée deux semaines plus tard.

Un groupe témoins de lapins non immunisés est greffé avec le même matériel.

Une certaine immunité de transplantation objectivée sous forme d'un retard de rejet de la greffe est relevée chez le mâle. Il n'existe pas de différence significative entre les femelles immunisées et les femelles témoins.

d - Conclusion

Les auteurs ont donc pu démontrer que le vaccin tréponémique, en plus de son action sur l'immunité vis-à-vis des tréponèmes, provoque une réponse vis-à-vis des antigènes testiculaires du lapin, les deux actions pouvant évidemment se renforcer l'une l'autre.

La question ne pourra être définitivement résolue, que lorsque l'on aura obtenu une suspension tréponémique pure de germes intacts. Tant que ce problème, lié à la culture des tréponèmes pathogènes ne sera pas résolu, il sera très difficile d'étendre cette vaccination.

L'intolérance au vaccin peut être grave, surtout si le vaccin est hétérologue ; on pourrait voir, par exemple, en cas d'administration à l'homme d'un vaccin provenant du lapin, une réaction de défense pouvant aller jusqu'à un "rejet" des testicules du receveur.

La preuve semble cependant apportée par cette expérience, qu'aucune relation stricte n'existe entre l'immunité syphilitique et l'immunité anti-testiculaire, ce qui n'est pas conforme à l'opinion anciennement admise.

Les résultats disparates, et liés au sexe, de l'immunité de transplantation, n'ont pu être expliqués par l'auteur, qui les rapproche cependant de la meilleure immunisation des femelles.

B - COMPARAISON DES PROCESSUS D'IMMUNISATION DE METZGER ET DE MILLER

En comparant les travaux de MILLER et de METZGER, on peut se demander quels auraient été les résultats de ce dernier, lors de la vaccination tréponémique, si au lieu d'une vaccination étendue sur 7 semaines, il l'avait étendue sur 37 semaines. Cette expérience pourrait se révéler utile, le stockage du vaccin de METZGER semblant actuellement plus aisé que celui de MILLER.

Les deux auteurs ont obtenu une immunisation totale chez l'un, partielle chez l'autre, en partant d'idées complètement opposées quant à la nature de l'antigène ; METZGER le considère thermolabile et MILLER thermostable et leurs procédés de fabrication du vaccin en ont été influencés. Cette opposition n'est pas faite pour éclairer le problème de la nature de l'antigène immunisant, bien que la nature thermostable soit plus séduisante, la méthode de METZGER conservant aussi bien un antigène termostable qu'un antigène thermolabile.

c - Recherches de MILLER, liées à la préparation du vaccin

En dépit du succès complet de son procédé d'immunisation, MILLER se pose de très nombreuses questions auxquelles il essaye actuellement de répondre, à l'aide de nombreuses expériences.

Ces problèmes sont très divers et fort intéressants.

1 - Persistance du tréponème vaccinal

Actuellement, pour s'assurer de la stérilisation biologique d'une syphilis après traitement, on utilise plusieurs méthodes, aucune ne donnant une certitude totale. Ce sont :

- la coloration de coupe de ganglions lymphatiques
- le transfert ganglionnaire à des lapins neufs
- l'inoculation de biopsie de lésion primo secondaire.

Or, il est essentiel de pouvoir prouver que les tréponèmes irradiés, injectés lors de la vaccination, persistent dans l'organisme et ont gardé leur vitalité et ce, malgré l'absence de réaction sérologique complète (le T.P.I. étant souvent négatif). Ainsi, il s'agirait plus d'une prémunition (persistance de l'agent infectieux), que d'une immunité vraie.

2 - Sensibilité de la méthode de contrôle par réinoculation

Lors des infections de contrôle, il est nécessaire de faire une réinoculation intra-dermique, sinon le test est très infidèle.

L'injection intra-testiculaire est la méthode la plus sensible de contrôle, mais il faut ensuite faire des examens sérologiques de contrôle, des transferts de ganglions lymphatiques, des frottis ganglionnaires avec coloration.

3 - Facteurs influençant la qualité de l'immunité

L'immunité acquise, semble varier en fonction de multiples facteurs :

- richesse de l'inoculum (44 - 90) et condition d'inoculation (88)
- qualité de la souche (88 - 90)
- lieu de réinoculation (test de contrôle)
- voie de réinoculation
- diminution avec le temps de l'immunité.

4 - Possibilité d'une vaccination croisée avec les autres tréponématoses

Le vaccin réalisé à partir de la souche NICHOLS, protège-t-il contre les tréponèmes d'autres souches de Treponema pallidum et contre Treponema carateum, Treponema pertenue, Treponema cuniculi ?

5 - Possibilité de réduire le nombre d'injections

Peut-on faire apparaître l'immunité après seulement une, deux ou trois injections de vaccin, chacune contenant $3,71 \times 10^9$ tréponèmes, les injections étant faites par voie sous-cutanée ou intramusculaire, avec ou sans adjuvants ?

6 - Conservation du vaccin

Pourra-t-on conserver et stocker suffisamment de tréponèmes inactivés, sans leur faire perdre leur pouvoir immunogène ? Des expériences sont en cours ; des tréponèmes inactivés ont été mis en suspension dans un sérum de lapin à 50 %, contenant 15 % de glycérol et sont gardés à - 200° C en azote liquide. Le vaccin ainsi obtenu doit vacciner par des injections intramusculaires ou sous-cutanées espacées, chaque dose contenant 4×10^9 tréponèmes.

7 - Extension de la vaccination à l'homme

Peut-on étendre les résultats acquis sur le lapin à l'homme, (voir ci-dessus) malgré le risque de production d'anticorps anti-testiculaire et l'emploi d'une souche adaptée au lapin _

8 - Existence d'un sérodiagnostic positif après vaccination

La présence chez le lapin immunisé d'anticorps réagissant irrégulièrement lors des réactions du V.D.R.L., du T.P.I. et du F.T.A.-ABS, pose le problème de leur persistance et de leur intéraction avec le sérodiagnostic, chez les sujets surinfectés.

d - Conclusion

Il est donc certain que, malgré les progrès réalisés ces derniers temps, le problème de la vaccination tréponémique est encore loin d'être résolu, essentiellement à cause de tous ces points connexes qui en rendent l'application à l'homme encore problématique.

oOo

IV - DISCUSSION SUR LE MECANISME DE L'IMMUNITE DANS LA SYPHILIS

A - ARGUMENTS EN FAVEUR D'UNE MEDIATION HUMORALE

Les antigènes protecteurs ne sont pas déterminés avec certitude, aussi bien dans leur localisation que dans leur nature.

1 - Travaux anciens

Depuis plusieurs années, on a démontré que la réagine et les anticorps fixant le complément produits lors de l'infection tréponémique, ne sont pas les anticorps protecteurs et ne sont liés, en aucune façon, à l'immunité (11 - 38 b - 55).

Le rôle des anticorps immobilisants du T.P.I. qui sont tréponémicides in vitro, a été beaucoup plus discuté. C'est ainsi que TURNER et NELSON ont trouvé une relation entre le taux des anticorps du T.P.I. et le taux d'immunisation (86), alors que MAGNUSON ne trouvait aucune relation nette entre l'évolution de ces deux taux (38 b).

2 - Travaux de MILLER

MILLER a définitivement résolu le problème au cours du travail exposé ci-dessus : les lapins ayant été immunisés 12 semaines ont un titre très élevé d'anticorps T.P.I., alors qu'ils ne sont absolument pas immuns, et lorsque l'immunité est apparue après 24 et 37 semaines, le titre des anticorps ne semble absolument pas lié au taux de l'immunité relevée (54).

D'autres travaux de MILLER et les travaux de METZGER (54) ont montré que l'immunisation totale ou partielle d'un lapin, contrôlée par l'épreuve de réinoculation, n'est pas obligatoirement liée à la présence des anticorps du T.P.I.

L'origine humorale de l'immunité dans la syphilis n'en est pas pour autant entièrement condamnée, les anticorps spécifiques pouvant ne pas être détectés et MILLER propose une hypothèse séduisante, basée sur l'existence d'un anticorps tréponémicide in vivo et d'une couche superficielle ou d'une tunique externe existant chez le tréponème pathogène et protégeant les antigènes immunisants.

Cette tunique externe enveloppant le tréponème et les filaments axiaux serait présente seulement chez les tréponèmes pathogènes (87).

METZGER (50) et HARDY ont montré que des tréponèmes virulents fraîchement isolés, ne réagissent pas sérologiquement, cette tunique externe protégeant les sites antigéniques superficiels de l'action des anticorps. Cette non activité disparaît après action de lysozyme qui détruit sans doute une mucopolyoside entrant dans la composition de cette tunique.

MILLER suppose qu'un anticorps dirigé contre un site antigénique de la tunique externe, se forme très lentement, alors qu'un anticorps tréponémicide dirigé contre les sites antigéniques plus profonds, se forme rapidement au contact de tréponèmes dépourvus de cette tunique.

Après 12 semaines, l'anticorps tréponémicide existerait en grande abondance, mais l'anticorps dirigé contre la tuniqa externe n'existe pas encore en assez grande quantité pour que les sites profonds soient démasqués. Il faut attendre 37 semaines pour qu'il apparaisse en quantité suffisante et détruise complètement la tunique externe, qu'il agisse seul ou associé au lysozyme.

Le tréponème est ensuite détruit, d'où l'absence de lésions lors des réinoculations.

3 - Travaux de SEPETJIAN, SALUSSOLA et THIVOLET (77)

Des essais de protection passive ont été réalisés. Si MILLER n'a pas obtenu de résultats favorables, par contre une expérience de SEPETJIAN et THIVOLET semble avoir été concluante.

a - Matériel et Méthode

Ces auteurs utilisent 5 lapins séronégatifs.

Deux des lapins sont protégés par l'injection, par voie intraveineuse d'un mélange de sérum titrant :

140 au T.P.I.
102.400 au F.T.A.
8 au Kline.

Chaque lapin protégé reçoit 11 injections de 20 ml. de sérum, la première faite le jour de l'inoculation, une heure avant celle-ci, la dernière le 14e jour.

L'inoculation consiste en l'injection, par voie intra-dermique de $4,8 \times 10^6$ tréponèmes répartis en 6 points différents, et obtenus à partir d'une orchite aiguë (Treponema pallidum, souche NICHOLS).

b - Résultats cliniques

Les lapins témoins font une maladie classique, le chancre débutant le 5e jour et cicatrisant à partir du 35e jour.

Les lapins protégés présentent un érythème léger du 7e au 28e jour, parfois, une papule apparaît, mais il n'y a jamais d'ulcération.

c - Résultats sérologiques

Chez les lapins témoins, le F.T.A. devient positif vers le 11e jour, monte ensuite progressivement, puis se stabilise vers le 30e jour.

Chez les lapins protégés, le F.T.A. est élevé dès le 1er jour, continue à monter jusqu'au 15e jour, puis décroît du 16e au 43e jour pour remonter tardivement au 57e jour.

d - Conclusion

Une protection due au sérum a donc été ainsi prouvée. Cette protection passive est relayée au 30e jour par une immunisation active.

Mais la protection passive n'est efficace que si elle débute avant l'infection (résultat acquis par les expérimentateurs, lors d'expériences préliminaires).

Si une application pratique de la sérothérapie semble donc peu probable, la présence d'anticorps circulants protecteurs semble ainsi affirmée.

B - ARGUMENTS EN FAVEUR D'UNE IMMUNITE A MEDIATION CELLULAIRE

Peu d'études ont été faites sur ce sujet, bien que la lenteur d'apparition de l'immunité soit en faveur d'un mécanisme cellulaire.

Des épreuves cutanées de sensibilisation au tréponême ont été réalisées avec des tréponèmes cultivés et des extraits d'organes syphilitiques, d'antigènes bruts, de lésions tréponémiques du lapin. Les résultats obtenus sont contradictoires et le plus souvent non reproductibles (8 - 27 - 36 - 61 - 64 - 75).

Les expériences réalisées avec des suspensions relativement purifiées de tréponèmes tués, ont montré une sensibilité de type allergie retardée, (voir au chapitre I).

Les expériences conduites sur la transformation blastique des lymphocytes, montrent que cette réaction est très précoce au cours de la syphilis. Il existe une période anté-allergique de quelques semaines. L'état allergique dont témoigne le T.P.I. persiste durant toute la maladie et même chez le sujet guéri après traitement et dont les tests sérologiques sont négatifs (28).

On a également trouvé un facteur plasmatique inhibant la transformation des lymphocytes sous l'action de la phytohémagglutinine, (3 - 23 - 37 - 39 - 76 - 78).

L'étude de la migration lymphocytaire a donné quelques résultats. A la phase primaire, il existerait une stimulation de la migration des lymphocytes et une inhibition lors de la syphilis tardive. Mais il n'existe aucune variation à la phase secondaire de la maladie, ce que les auteurs (17) pensent être dû à une baisse de l'immunité à médiation cellulaire lors de la syphilis secondaire. Dans le cas de la syphilis latente, les résultats ne sont pas concluants.

Mais toutes ces études sont encore insuffisantes. Il faudrait déjà les refaire avec des lymphocytes provenant d'espèces diverses et avec des sérums provenant de malades atteints des diverses tréponématoses.

Il faudrait aussi réussir un transfert passif de lymphocytes (mais il n'existe pas de lignées pures chez le lapin), ainsi que des expériences sur l'inhibition des macrophages et l'étude de la cytotoxicité.

D'autres expériences devraient être réalisées sous couvert d'immunosuppresseurs avec transfert cellulaire, afin de déterminer l'importance d'une immunité à médiation cellulaire.

oOo

V - CONCLUSIONS

L'immunité conférée par une première atteinte de la syphilis, a été constatée dès le début de l'extension de cette maladie en Europe.

Les modalités d'installation et de persistance de cette immunité ont été rapidement précisées, ainsi que l'évolution clinique de la maladie.

Lorsqu'un traitement présumé stérilisant (arsenicaux et pénicilline) fut connu, il devint possible de distinguer l'immunité de surinfection (déjà connue) et qui apparaît quelques semaines après le chancre, de l'immunité de réinfection qui persiste après un traitement réputé stérilisant.

L'immunité n'a pas de support antigénique rattachable à une structure tréponémique définie. Elle ne semble pas avoir de relations étroites avec l'allergie cutanée de type retardé, constatée après le stade secondaire de la syphilis.

Cependant, la structure antigénique des tréponèmes se précise de plus en plus. On connaît, actuellement, une douzaine d'antigènes répartis entre l'enveloppe, la membrane cytoplasmique, le cytoplasme et le faisceau de fibrilles, les principaux étant : le cardiolipide, l'antigène protéique de groupe, les antigènes protéiques spécifiques de souche, les antigènes polyosidiques spécifiques d'espèces.

Ces antigènes ont pu, pour plusieurs d'entre eux, être reliés à une réaction sérologique pratiquée couramment (KOLMER, V.D.R.L., T.P.I. ; F.T.A.), mais jamais avec les réactions immunitaires qui ont donc un support vraisemblablement distinct.

La syphilis et les autres tréponématoses restant à l'heure actuelle des fléaux à l'échelle mondiale, on a tenté de provoquer l'immunité en préparant des vaccins anti-tréponémiques.

Les nombreuses tentatives faites dans le passé :

- tréponèmes pathogènes tués, de façon diverses
- tréponèmes non pathogènes
- tréponèmes pathogènes dans des expériences d'immunité croisée
- extraits tréponémiques

n'ont pas donné de résultats concluants ; tout au plus, a-t-on obtenu parfois, une immunisation partielle.

Ce problème de la vaccination a été repris depuis quelques années, avec des résultats plus satisfaisants.

METZGER a réussi à obtenir, en utilisant un vaccin fait de tréponèmes inactivés, par vieillissement et contact avec la pénicilline (ce qui conserve les antigènes thermolabiles qui, selon l'auteur, sont à l'origine de la protection immunitaire), une immunisation s'accompagnant de la production d'anticorps sériques.

MILLER a obtenu une immunisation complète en utilisant pour son vaccin, des Treponema pallidum irradiés par des rayons γ . Ces Tréponèmes ne sont plus virulents, mais sont encore mobiles, ayant ainsi conservé, selon l'auteur, ses antigènes protecteurs thermostables.

Mais, dans les deux cas, le processus d'immunisation nécessite une méthodologie complexe (extraction et inactivation des tréponèmes) et très longue (7 semaines pour METZGER, 37 semaines pour MILLER, par voie intramusculaire ou intraveineuse), sinon, l'immunité acquise est très faible.

Si imparfaits que soient ces résultats, ils représentent, cependant, le premier élément positif sérieux sur la voie d'une vaccination réalisable pratiquement.

Les problèmes liés à cette vaccination restent très nombreux et très variés et de nombreux travaux sont en cours actuellement pour les résoudre.

Principalement, il se pose le problème de l'apparition d'anticorps anti-testiculaires, liés à la présence de tissus testiculaires dans la préparation vaccinale, et celui du devenir des tréponèmes injectés lors de la

vaccination, ainsi d'ailleurs, que la valeur de ce vaccin vis-à-vis des autres tréponématoses.

En dehors de l'obtention pratique du vaccin, il faut déterminer la nature du support de son action. Est-on en présence d'une immunité à médiation cellulaire ou d'une immunité à médiation humorale ?

En faveur de la première hypothèse, plaident la lenteur d'apparition de l'immunité, la nature ulcérante des lésions cutanées de la maladie, les expériences récentes sur le test de transformation des lymphoblastes, le facteur plasmatique inhibant la transformation des lymphocytes, la migration lymphocytaire.

Mais les éléments en faveur de la seconde hypothèse sont plus nombreux et surtout plus convaincants, le principal étant la réussite d'une protection passive.

L'antigène protecteur n'est cependant toujours pas connu et l'anticorps correspondant n'a pas été identifié. Il est certainement différent de l'anticorps immobilisant et de tous les autres anticorps connus.

Le nombre de travaux récents et les progrès qu'ils ont permis, laissent espérer la préparation, dans un avenir relativement proche, d'un vaccin applicable à l'homme - et peut-être valable pour toutes les tréponématoses - bien qu'il semble que l'on s'achemine plutôt vers un vaccin spécifique pour chacune d'entre elles.

Il n'en demeure pas moins vrai, que toutes les tentatives de mise au point de vaccin sont lourdement grevées par l'incapacité où nous sommes encore, de cultiver les tréponèmes pathogènes in vitro et de conserver leurs structures antigéniques intactes.

oOo

Vu, le Président de Thèse :

Professeur DAGUET

Vu, le Doyen de la Faculté :

Professeur LOYGUE

Vu et Permis d'Imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris

R. MALLET

BIBLIOGRAPHIE

1 - BESSEMANS A.

The Local application of heat as an adjunct in the social and individual prophylaxis of symphilis.
Urol. cutan. Rev. 34, 71. 1930

2 - CHESNEY A.M.

Immunity in syphilis.
Baltimore Md., 1927

3 - CHIEREGATO G. et FALDARINI G.

Minerva derm 43 264, 1968.

4 - CHRISTIANSEN S.

Lancet 1, 423, 1963.

5 - COLLART P., BOREL L.J., DUREL P.

Ann. Inst. Pasteur 102, 596 et 693, 1962.

6 - COLLART P., BOREL L.J., DUREL P.

Brit. J. Vener. Dis. 40, 81, 1964.

7 - COLLART P., DUREL P.

Ann. Derm. Syph. (Paris), 91, 485, 1964.

8 - CSONKA G.

Med. Ill. (London), 4, 389, 1950.

9 - CSONKA G.

Skin testing in syphilis using treponema pullidum agglutination (T. P.A) antigen : a preliminary report
WHO/VDT/136., 1955.

10 - D'ALESSANDRO G., DARDANONI L.

Isolation and purification of the protein antigen of the Reiter tréponème.
Amer. J. Syph. 37, 137., 1953.

11 - EAGLE H., FLEISHMAN R.

The antibody response in rabbits to killed suspension of pathogène Treponema pallidum.
J. exp. Med. 87, 369., 1948.

12 - EAGLE H., FLEISHMAN R., MUSSELMAN A.D.

J. Bact., 59, 625., 1950.

13 - FRAZIER C.N., HU., J.W., HU. CK

Influence of oestrogenic substance upon experimental syphilis of adult male rabbit.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 33, 65., 1935.

14 - FRAZIER CN., BENSEL A., KEUPER CS.

Further observations in the duration of spirochetemia in rabbits with asymptomatic syphilis.
Amer. J. Syph. 36, 167., 1952.

15 - FREDRIKSSON T., HEDERSTEDT B., ROSENGREN S.

A study on the serology in relation to histopathological findings in treponema pallidum infected animals and man.
WHO/VDT/RES/67 120., 1967.

16 - FRIBOURG-BLANC A., NIEL G., MOLLARET H.

Note sur quelques aspects immunologiques du cynocéphale africain.
Bull. Soc. Path. Exot. 56, 474., 1963.

17 - FULFORD K.W.N., BROSTOFF J.

Leucocyte migration and cell. mediated immunity in syphilis.
WHO/VDT/RES/72 285., 1972.

18 - GRODECKA U., OSINKA M.

Postepy. Hig. Med. dośw. 11, 387., 1957.

19 - GUTHE T., IDSOE O.

Antibiotic treatment of syphilis in : Luger, A. ed, Current problems in dermatology.
Bale et New York, Kurger vol 2 pp 1 - 38, (1968).

20 - HARDY P.H., NELL E.E.

Specific agglutination of Treponema pallidum by sera from rabbits and human beings with treponemal infections.
J. exp. Med. 101, 367, 1955.

21 - HARDY P.H., NELL E.E.

Amer. J. Hgg. 66, 160., 1957.

22 - HARDY PH., NELL E.E.

J. Bact. 82, 967, 1961.

23 - HEITMANN H.J.

Z. Haut-u Geschl. Kr, 44, 121, 1969.

24 - HOFFMANN E.

Derm Z, 54, 369, 1928.

25 - HOLLANDER D.H., TURNER T.B., NELL E.E.

The effect of long continued subcurative doseses of penicillin during the incubation period of experimental syphilis.
Bull. John. Hopk. Hops. 90, 105, 1952.

26 - HOLLANDER D.H., TURNER T.B.

The role of temperature in experimentale treponemal infections.
Amer. J. Syph. 38, 489, 1954.

27 - HURIEZ C., MARTIN P., BAELDEN J.

Lille, Med., 6, 178, 1961.

28 - JANCT C., GRANDIDIER M., PUPIL P., THOMAS J.L., BEUREY J. de LAVERGNE E.

Le test de transformation lymphoblastique au cours de la syphilis.
Presse Med. 43, 1901., 1971.

29 - JEPSEN O.B., NOUGEN H.H., BRICH-ANDERSEN A.

Electron microscopy of Treponema pallidum Nichols.
Acta path. microbiol. scand. 74, 241, 1968.

30 - JONES R.H., NEVIN T.A., GUEST W.J., LOGAN L.C.

Brit. J. vener. Dis. 44, 193, 1968.

31 - JULIAN A.J., LOGAN L.C., NORINS L.C.

Early syphilis : immunoglobulins reactive in immunofluorescence and other serologics test.
J. Immunol. 102, 1250, 1969.

32 - KEMP J.E., SHAW C.

The effect of the administration of theelin upon the course of experimental rabbit syphilis.
Amer. J. Syph. 22, 9, 1938.

33 - KEMP J.E., SHAW C., FITZGERALD E.M.

The effect of testosterone propionate on the course of experimental rabbit syphilis.
Amer. J. syph. 23, 430, 1939.

34 - KIRALY K., BACKHAUSZ R., JABBAGY A., LAGOS J., KOVATS L.

Fluorescent tréponémal antibody test with antihuman immune sera of different specificity.
WHO/VDT/RES/67 130., 1967.

35 - KNOX J.M., DACRES W.G., SHORT D.H., GLICKSMAN J.M.

Research on immunology in syphilis
WHO/VDT/RES/67 128, 1967.

36 - LAIRD S.M., THORBURN A.L.

Brit. J. Vener. Dis. 42, 119, 1966.

37 - LAZZARD C., LANZA C.

Bull. Soc. Med. Chir.Catania 33, 287, 1965.

38a - MAC LEOD C.P., MAGNUSON H.J.

A study of cross immunity between syphilis and yaws in penicillin treated rabbits.
Port II Development of asymptomatic reinfection
WHO/VDT/55 40, 1955.

38b - MAC LEOD C.P., MAGNUSON H.J.

Production of immobilizing antibodies unaccompanied by active immunity to Treponema pallidum as shown by injecting rabbits and mices with killed organisms.
Amer. J. Syph 37, 9, 1953.

39 - LEVENE G.M., TURK J.L., WRIGHT D.L., GRIMBLE A.G.S.

Lancet, 2, 246., 1969.

40 - LITTLE P.A., SUBBAROW Y.

J. Immunol. 50, 213, 1945.

41 - MAGNUSON H.J., HALBERT S., ROSENAU B.J.

Attempted immunization of rabbits against syphilis with killed Treponema pallidum and adjuvant.
J. Vener. Dis. Infor. 28, 267, 1947.

42 - MAGNUSON H.J., ROSENAU B.J.

The rate of development and degree of acquired immunity in experimental syphilis.
Amer. J. Syph. 32, 418.

43 - MAGNUSON H.J., ROSENAU B.J., CLARK J.W.

The duration of acquired immunity in experimental syphilis.
Amer. J. Syph. 33, 297, 1949.

44 - MAGNUSON H.J., THOMAS E.V., OLANSKY S., KAPLAN B.I., DEMELLO L., CUTLER J.C.

Inoculation of syphilis in human volunteers. Medicine 35, 33., 1953.

45 - MAHONEY E.M., ARNOLD R.C., HARRIS A.

J. vener. Dis. Infor. 24, 355, 1943.

46 - MARSHAK L.C., ROTHMAN S.

Skin testing with a purified suspension of Treponema pallidum.
Amer. J. Syph. 35, 35, 1951.

47 - MATEJ H.

Arch. Immunol. et ther. exp. 18, 29., 1970.

48 - MATSUMOTO S.

Experimental syphilis und Framboesie - Kioto - Monographiae Actorum Dermatologicorum Series B - Syphilidologica N°3.

49 - MATSUMOTO S.

Experimental syphilis und Framboesia, ins besondere die Frage thren identität oder Dualität, Kioto (Monographiae Actorum Dermatologicorum, series B, syphilidologica, N° 10).

50 - METZGER M., PODWINSKA J.

Arch. Immunol. ther. exp. 13 516, 1965.

51 - METZGER M., SMOGOR W.

Arch. Immunol. ther. exp. 14, 445, 1966.

52 - METZGER M., MICHALSKA E., PODWINSKA J., SMOGOR W.

Bact. J. vener. Dis. 45, 299., 1969.

53 - METZGER M., SMOGOR W.

Brit. J. vener. Dis. 45, 308, 1969.

54 - METZGER M., MATEJ H., SMOGOR W.

Artificial immunization of rabbits against experimental syphilis.
Part. II Immunological side effects of the treponemal vaccines. WHO/VDT/RES/72 276., 1972.

55 - MILLER J.N., WHANG S.J., FAZZAN F.P.

Brit. J. ven.Dis. 39, 195, 1963.

56 - MILLER JN., DEBRUIJN J.H., BEKKER J.H.

J. Bact. 91, 584, 1966.

57 - MILLER J.N.

J. Immunol. 99, 1012, 1967.

58 - MILLER J.N., BEKKER J.H., DEBRUIJN J.H., CHOLEC P.C.

J. Immunol. 99, 132, 1969.

59 - MILLER J.N.

Immunity in experimental syphilis vaccines and possible mechanism(s) of the immunine response.
WHO/VDT/RES/71 234, 1971.

60 - MOORE C.R., QUICK W.S.,

The scrotum as a temperature regulator for the testis.
Amer. J. Physiol. 68 70, 1924.

61 - NEISSER A.

Bericht über die in Batavia und Breslau ausge Führten Arbeiten zar Erforschung der syphilis Berlin, 1911.

62 - NELL E.E., HARDY P.H.,

Studies on the clinical composition and immunologic proportion of a polysaccharides from the Reiter Treponème.
Immunochimistry 3, 233, 1966.

63 - NELSON R.A.

Factors affecting the survival of treponema pallidum in vitro.
Amer. J. Hyg. 48, 120., 1948.

64 - NOGUCHI H.

The Spirochetes In : Jordan E.O & Fulk Is.

The newer knomledge of bacteria and immunology, Chicago, 1928

65 - NORINS L.C., LOGAN L.C., JULIAN A.J.

Antibodies in the course of syphilis in rabbits.
Unpublished observations., 1968.

66 - O.M.S.

Comité d'experts des maladies vénériennes et tréponématoses (1970).
Recherches sur les tréponématoses. Rapport technique n° 455.

67 - OUTCHERLONY O.

Acta path. microb. Scand. 25, 186, 1948.

68 - OVCINNIKOV N.M., DELEKTORSKIJ V.V.

Bull. O.M.S. 35, 223, 1966.

69 - OYAMA V.I., STEINMAN H.G., EAGLE H.

The nutritional requirement of treponemata V. A detoxified lipide as the essential growth factor supplied by crystallized serum albumin.
J. Bact. 65, 609, 1953.

70 - PEARCE L., MURPHY J.B.

Reciprocal effects of concomitant infections. I. The influence of vaccinia on the reaction of infection with experimental syphilis.
J. exp. Med. 47, 611.

71 - PILLOT J.

Contribution à l'étude du genre Treponema. Structures anatomiques et antigéniques.
Thèse N° 4571, université de Paris, 1965.

72 - PILLOT J., DUPOUEY P., RYTER A.

Ann. Inst. Pasteur 107 484, 1964.

73 - POULSON DF., SAKAGUCHI B.

Nature of "sex-ratio" agent in drosophila.
Science 133 1489, 1961.

74 - REYNOLDS FW.

The late of Treponema pallidum inoculated subcutaneously into immune rabbits.
Bull. Johns. Hopk. Hosp. 69, 53, 1941.

75 - ROTTMANN A.

New Weye in der Diagnostik und Therapie der Lues
Vienne, Hollinck, 1946.

76 - SAPUPO A., LAZZARO C.

Minerva derm. 44, 560, 1969.

77 - SEPETJIAN M. SALUSSOLA D., THIVOLET J.

Essai de protection du lapin contre la syphilis expérimentale par des anticorps apportés de manière passive. WHO/VDT/RES/72 279, 1972.

78 - SIMON N., DOBOZZI A., HUNIJADS J.

Arch. Klin. exp. Derm. 236, 1, 1969.

80 - STEINMAN HG., EAGLE H., OYAMA V.I.

The nutritional requirement of treponemata. Part III. A defined medium for cultivation of the Reiter treponema.
J. Bact. 64, 265. 1950.

81 - SWAIN RHA

Electron microscopy studies of the morphology of pathogenic spirochetes.
J. Path. Bact. 49 117, 1955.

82 - SYKES J.A., MILLER J.N.

Intracellular location of treponema pallidum (Nichols Strain) in the rabbit testis. WHO/VDT/RES/71 252, 1971.

83 - TANI T., INOUE R., ASANO O.

Studies on the preventive inoculation against syphilis.
Jap. med. J. 4 71, 1951.

84 - THIVOLET J., SIMERAY A., ROLAND M., CHALLUT F.

Ann. Inst. Pasteur 85, 23, 1953.

85 - TRINGALI G., DEL CARPIO C., GIAMMANCO N.

Sensitivity to 2 - mercapto-ethanol of reagins in human syphilis in B.F.P. reactors in "normal rabbits"
Riv. Ist. Sieroter Ital 41 291, 1966.

86 - TURNER T.B., NELSON R.A.

The relationship of treponemal immobilising antibody to immunity in syphilis.
Trans. Ass. Amer. Phys. 63, 112., 1950.

87 - TURNER T.B., HOLLANDER D.H.

Studies on the action of cortisone in experimental syphilis.
New-York (New-York Academy of medecine, Symposia of the section of Microbiology n° 6), 1952.

88 - TURNER T.B., HOLLANDER D.H.

Biology of the treponematoses O.M.S. series de monographies n°35, 1959.

89 - WARING G.W., FLEMING W.L.

Further attempts to immunize rabbits with killed Treponema pallidum.
Amer. J. Syph. 35, 568, 1951.

90 - WILLCOX R.R., GUTHE T.

Treponema pallidium : a bibliographical review of the morphology, culture and survival of T. pallidum and associated organisms. O.M.S. Genève, 1956.

91 - WILLCOX R.R., GUTHE T.

Treponema pallidum - Genève O.M.S. Bull. Org. Mond. Santé, suppl. au vol. 35, 1966.

92 - YAMAMOTO T.

The influence of external temperature on experimental syphilis in the rabbit.
Acta Derm. (Kioto) 12, 225, 1929.

o
o o